

氏 名	吉 垣 茂
学位(専攻分野の名称)	博 士 (生物産業学)
学 位 記 番 号	乙 第 892 号
学 位 授 与 の 日 付	平成 26 年 2 月 17 日
学 位 論 文 題 目	ハチミツの元素分析による種類特定と品質に及ぼす関連成分の影響
論 文 審 査 委 員	主査 教 授・博士(農芸化学) 永 島 俊 夫 教 授・農 学 博 士 佐 藤 広 顕 教 授・薬 学 博 士 安 藤 達 彦 農 学 博 士 中 村 純*

## 論文内容の要旨

ハチミツとは、ミツバチが花から集めてきた花蜜（主成分は糖類）に、ミツバチの唾液腺から外分泌される酵素群を作用させ、主要糖のショ糖をブドウ糖と果糖に変化させたもので、糖質の他に有機酸、遊離アミノ酸、ミネラル、ビタミンなどが含まれている。ハチミツの種類は豊富にあり、ミツバチが訪れる蜜源植物、季節や地域などの要因によって栄養成分や元素含有量が異なるといわれている。ハチミツは古来より甘味料として珍重され、現在では食品や飲料の原料、化粧品など化成品原料、そして健康食品を含めた医療分野などで幅広く利用されており、保湿作用、滋養強壮作用、抗菌作用、抗炎症作用、抗酸化作用といった効能効果が期待されている。

近年、食品の偽装が頻繁に明らかになっているがハチミツも例外ではなく、ここ数年間で外国産を国内産として販売する産地偽装や異性化糖など偽和物を混入させた事件が多発している。ハチミツの成分に関する分析方法は開発が進み実用化されているが、種類（蜜源植物）や地域（産地）などを特定する分析方法に関しては開発が遅れており、ハチミツの食の安全・安心、品質の保持、効能効果の安定化、そしてブランド保護という観点から、種類や地域の特定制法の確立は急務であると考えられる。

本研究は、ハチミツに含まれている花粉および元素を測定して、判別関数分析を用いることで、ハチミツの種類や地域性および採蜜年度の特定が可能かを調べ、これらの特定に関して利便性に優れた実用的な手法を探ることを目的として検討を行った。また、これに関連して、ハチミツの鮮度と品質を評価する方法として、インペルターゼ活性と葉酸含有量を指標に用いた新しい測定法の

検討を行うとともにハチミツの結晶化による液状部分と固体部分の成分の比較検討を行い、結晶化がハチミツの成分組成におよぼす影響を調べた。その結果、これらに関して新たな知見が得られたので本論文とした。

### 1. 元素分析によるハチミツの種類判別と地域性

各種ハチミツに関して、地域別に採蜜されたハチミツを使用して、ハチミツに含まれている元素を測定し判別関数分析を行うことで地域性があるか検討した。また、ハチミツに含まれている全花粉構成の中で、目的とされる蜜源植物の花粉が占める割合からハチミツの種類を特定する花粉分析法を取り入れ、これら二つの分析方法を用いることでハチミツの種類判別が可能かを検討した。

その結果、花粉分析による各種ハチミツの目的花粉含有率は、レンゲハチミツは 60% 台、アカシアハチミツは 20% 台となり、国際蜜源植物委員会が提唱している「単花ハチミツとしての表示指針」により、単花ハチミツとして種類を確定することができた。ハチミツ中の元素の総含有量は、レンゲハチミツは約 26.9mg/100g、柑橘類ハチミツは約 33.1mg/100g、アカシアハチミツは約 21.2mg/100g であった。種類別に判別関数分析を行ったところ、レンゲハチミツは 77.8% が判別でき、柑橘類ハチミツは 85.7%、アカシアハチミツは 96.4% が判別できた。全体の正解率は 89.7% であった。地域別に判別関数分析を行ったところ、レンゲハチミツでは九州地方産は 91.7%、徳島県産は 100%、岐阜県産は 100% が判別できた。全体の正解率は 92.6% であった。柑橘類ハチミツでは、静岡県産は 77.8%、四国地方産は 75.0%、熊本県産は 100% が判別できた。全体の正解率は 78.6% であった。アカシアハチミツでは、秋田県産

\* 玉川大学学術研究所教授（農学）

は 80.0%, 北海道産は 65.2%, その他の地域は 100% が判別できた。全体の正解率は 75.0% であった。世界各国で採蜜されたアカシアハチミツでは、日本産は 92.8%, イタリア産は 50.0%, ハンガリー産は 66.7%, フランス産は 100%, 中国産は 100% が判別できた。全体の正解率は 90.6% であった。以上より、花粉分析の特徴である蜜源植物の種類判別の正確さを生かし、元素による判別関数分析の結果を合わせることで、ハチミツの種類判別と地域判別が可能であることが明らかになった。

## 2. 各種ハチミツの元素分析による採蜜年度の判別

各種ハチミツに関して、同じ蜜源植物で、同じ地域で採蜜されたハチミツを使用して、元素含有量を測定し判別関数分析を行うことで、ハチミツでは報告例がない採蜜年度による判別が可能かを検討した。

その結果、九州地方産レンゲハチミツは 2009 年、2010 年および 2011 年で正解率は 100% であった。静岡県産柑橘類ハチミツは 2009 年、2010 年および 2011 年で正解率は 100% であった。秋田県産アカシアハチミツでは 2009 年は 94.1%, 2010 年は 16.7%, 2011 年は 85.7% が判別できた。全体の正解率は 76.7% であった。北海道産アカシアハチミツでは 2009 年は 92.3%, 2010 年は 66.7%, 2011 年は 50.0% が判別できた。全体の正解率は 78.3% であった。以上より、アカシアハチミツは採蜜年度による判別が明確でないが、レンゲと柑橘類のハチミツでは採蜜年度による判別が可能であることが明らかになった。

## 3. インペルターゼ活性と葉酸含有量を指標にしたハチミツの鮮度評価

ハチミツは糖度が高く、透明で粘性を有する液状で、数年から数十年でも保存が可能とされている。また、時間経過や温度変化により結晶化することが知られている。一般的に、結晶化したハチミツは、加熱処理して液状に戻してから製品にされ流通している。ハチミツを長期保存や加熱処理することで鮮度と品質の低下をまねくことが懸念され、これを適切に評価することが重要である。そこで、ハチミツ中のインペルターゼ活性と葉酸の濃度に着目し、これらの変化がハチミツの鮮度および品質を評価する新たな指標になるかを検討した。

その結果、インペルターゼ活性は、電子レンジで 5 秒間加熱すると急速に残存活性が低下し、13 秒間では 97% 失活することが分かった。ハチミツを 60℃ で処理したときのインペルターゼ活性は、10 分間の処理で約 70% 失活し、60 分間では 85% 失活した。50,000 Lx の

人工光照射を 5 日間行くと約 40% の失活が見られた。葉酸濃度は、40~60℃ で処理すると処理開始から 60 分間で 60% 台まで低下し、70℃ および 80℃ では、処理開始から 10 分間で 60% 前後まで低下した。長期間室温保存したハチミツは、採蜜してから 1 年を経過するとインペルターゼ活性と葉酸濃度が低下した。このように、インペルターゼや葉酸は保存環境の変化を鋭敏に反映していることが考えられ、ハチミツの鮮度および品質を評価する指標になると考えられた。

## 4. ハチミツの結晶化と関与する成分

ハチミツは、養蜂家がミツバチの巣箱から採蜜したときは透明で液状だが、物理的現象としてしばしば結晶化する。ハチミツの結晶化は、ブドウ糖や果糖などの糖質が過飽和状態にあり、ハチミツ中の花粉などを結晶核として糖質の微細な結晶が成長して固体状になると考えられているが、今までに明確な報告はされていない。そこで、ハチミツの液状部分と固体部分において、花粉数と元素の含有量を測定し、さらに精製ハチミツにおいても同様に元素を測定することで、結晶化による液状部分と固体部分の元素成分の推移を比較検討した。

花粉分析の結果より、液状部分と固体部分に含まれている総花粉数の比率（固体部分/液状部分）を比較すると、30 倍以上が 5 種類、10 倍前後が 2 種類、数倍が 5 種類あった。ハチミツの種類によって液状部分と固体部分に含まれている花粉数に違いがあり、定説通り、固体部分に花粉が多く含まれていることが分かった。液状部分と固体部分における元素の総含有量を比較すると、全てのハチミツで液状部分に元素が多く含まれており、主成分分析の結果では、含まれている元素の種類にも違いがあることが明らかになった。精製ハチミツにおいても、同様に液状部分に元素が多く含まれており、ハチミツ中の元素は花粉由来のものばかりでなく、花蜜由来のものも多く含まれていることが分かった。糖組成では、液状部分は果糖が多く固体部分はブドウ糖が多い特徴が見られた。これらのことから、ハチミツの結晶化は花粉などの微細な物質が核となりブドウ糖が結晶することで起こるのに対し、元素は結晶核にはなり得ず、結晶化が進むにつれ液状部分に移動して濃縮すると考えられ、ハチミツの結晶化に伴う成分の変化を明らかにすることができた。

以上、本研究により、ハチミツは花粉分析と元素による判別関数分析の二つの分析方法を用いることで、高い信頼性をもってハチミツの種類、地域性、さらに採蜜年度の特定が可能であった。この方法は、花粉分析法の特

徴である種類判別の正確さと簡易性、および一部の野菜ですでに実用化されている元素による判別関数分析法の二つの分析方法を用いた手法であり、ハチミツの判別法として実用可能な方法の一つであると考えられた。また、ハチミツ中のインベルターゼ活性や葉酸濃度はハチミツの保存環境の変化を鋭敏に反映していることから、ハチミツの鮮度および品質を評価する新たな指標になることが明らかとなった。特にインベルターゼは、ミツバチが花蜜からハチミツを作るときに外分泌する酵素群の一つで、ミツバチが作ったハチミツには必ず含まれてい

ることから、指標としての信頼性が高く、ハチミツの品質を評価するには有効な成分であると考えられた。ハチミツの結晶化は花粉などの微細な物質が核となりブドウ糖が結晶化することで起こり、元素は結晶化により液状部分に移動し濃縮することが分かり、ハチミツの結晶化に関与する成分について明らかにすることができた。

本研究ではハチミツの元素による種類特定や品質関連成分についての新たな知見が得られ、これらの成果は今後関連業界においてハチミツの品質を評価する上で、実用的手法として活用できるものと考えられた。

## 審査報告概要

本論文は2009年から2011年の間、全国各地より採取したハチミツ試料を用い、花粉分析による目的花粉の含有率と元素組成による判別関数分析によりその種類、地域、年度などの特定ができ、外国産についても同様の手法で応用できることを明らかにした。また、ハチミツは長期保存が可能とされているが、その品質に及ぼす成分として、インベルターゼ活性や葉酸含量などは保存環境が反映されていることがわかり、これらを測定することにより、品質（鮮度）を評価する指標となることが明ら

かになった。さらにハチミツの結晶化には花粉などの微細な物質が核となりブドウ糖が結晶化することなどもわかった。以上のように、ハチミツの産地や種類の特定や品質の指標となる成分など、新たな有用な知見が得られており、これらの成果は今後関連業界において、その品質を評価する上で実用的手法として活用できるものと思われる。

よって、審査員一同は博士（生物産業学）の学位を授与する価値があると判断した。